

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. G. Kuschinsky)

**Untersuchungen über die Noradrenalin-Freisetzung
durch
Acetylcholin am perfundierten Kaninchenherzen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
KONRAD LÖFFELHOLZ
aus Berlin

Mainz ~~1967~~

1968



Dekan:	Prof. Dr. Dr. Thews
Referent:	Prof. Dr. E. Muscholl
Korreferent:	Prof. Dr. G. Kuschinsky
Tag der mündlichen Prüfung: 10. Mai 1968	

Untersuchungen über die Noradrenalin-Freisetzung durch Acetylcholin am perfundierten Kaninchenherzen*

K. LÖFFELHOLZ

Pharmakologisches Institut der Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. G. KUSCHINSKY)

Eingegangen am 25. März 1967

* Über einen Teil der Ergebnisse wurde auf der 30. Tagung der Dtsch. Pharmakol. Ges. in Kiel, September 1966, berichtet (LÖFFELHOLZ u. MUSCHOLL).

On the Release of Noradrenaline from the Perfused Rabbit Heart Caused by Acetylcholine

Summary. The following experiments were done in order to study the effects of alterations in the ionic composition of the perfusion fluid of the isolated rabbit heart on the noradrenaline release caused by acetylcholine. The perfusion fluid contained 3×10^{-6} g/ml atropine throughout the whole experiment. Acetylcholine was infused into the aortic cannula for 30 sec at a concentration of 3×10^{-5} g/ml and this effect was repeated at time intervals of 15 min. Heart rate, contractile amplitude and coronary flow were recorded. The noradrenaline output into the perfusate was measured fluorometrically.

Lowering of the calcium concentration decreased the noradrenaline output following administration of acetylcholine. Conversely, elevation of the calcium concentration increased the noradrenaline output. The resting output of noradrenaline was not affected by alterations of the calcium concentration of the perfusion fluid.

Magnesium neither antagonized the action of calcium on the noradrenaline release by acetylcholine nor was it effective as a substitute for calcium.

Lowering of the sodium or potassium concentration of the perfusion fluid caused an increase in the noradrenaline output following acetylcholine provided the noradrenaline output was initially kept at a submaximal level by decreasing the external calcium concentration. Substantial elevation of the potassium concentration of the perfusion fluid did not affect the resting output of noradrenaline but decreased the output caused by acetylcholine.

It is concluded that the release of noradrenaline from the sympathetic nerve ending evoked by acetylcholine is dominated by a calcium-sodium antagonism as previously described for the chromaffin cell (DOUGLAS). The experiments in which CaCl_2 was substituted by MgCl_2 and NaCl was substituted by sucrose or LiCl provided evidence that calcium ions promote and sodium ions inhibit noradrenaline release. The above findings obtained on the sympathetic nerve endings differ markedly from the results on the chromaffin cell (DOUGLAS) as far as the actions of magnesium or excess potassium are concerned. The effects on noradrenaline output brought about by variations of the ionic concentrations cannot be explained by concomitant alterations of the coronary flow.

Key-Words: Heart — Noradrenaline release — Acetylcholine — Calcium — Cations.

Zusammenfassung. Die Wirkung veränderter Elektrolyt-Konzentrationen auf die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin wurde am isolierten, perfundierten Kaninchenherzen untersucht. Acetylcholin wurde in einer Konzentration von 3×10^{-5} g/ml 30 sec lang in die Aortenkanüle infundiert. Die Perfusionsflüssigkeit enthielt Atropin (3×10^{-6} g/ml) während der ganzen Versuchsdauer. Die von den Herzen in das Perfusat abgegebenen Catecholamine wurden fluorimetrisch bestimmt; außerdem wurden die Herzfrequenz, die Kontraktionsamplituden und der Coronardurchfluß registriert.

Bei verminderter Ca^{++} -Konzentration wurde die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin herabgesetzt und bei erhöhter Ca^{++} -Konzentration gesteigert; die Spontanabgabe von Noradrenalin wurde durch veränderte Ca^{++} -Konzentrationen nicht beeinflusst.

Erhöhung der Mg^{++} -Konzentration beeinflusste die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin bei normaler oder verminderter Ca^{++} -Konzentration nicht.

Herabsetzung der Konzentrationen von Na^+ oder K^+ steigerte die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin, sofern die Ca^{++} -Konzentration vermindert war. Erhöhung der K^+ -Konzentration steigerte die Spontanabgabe von Noradrenalin nicht; die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin wurde aber herabgesetzt.

Aus den Ergebnissen wird gefolgert, daß die Noradrenalin-Freisetzung durch Acetylcholin aus peripheren, sympathischen Nerven einem Ca^{++} - Na^+ -Antagonismus unterliegt, wie er schon für die Noradrenalin-Freisetzung durch Acetylcholin aus der chromaffinen Zelle beschrieben worden ist (DOUGLAS). Die Versuche, in denen CaCl_2 durch MgCl_2 und NaCl durch Saccharose oder LiCl substituiert wurden, brachten Hinweise dafür, daß die Noradrenalin-Freisetzung durch Ca -Ionen gefördert und durch Na -Ionen gehemmt wird.

Beim Vergleich der vorliegenden Befunde mit entsprechenden Untersuchungen an der chromaffinen Zelle (DOUGLAS) ergaben sich wesentliche Unterschiede hinsichtlich der Bedeutung der Mg^{++} - und besonders einer gesteigerten K^+ -Konzentration.

Schlüsselwörter: Herz — Noradrenalin-Freisetzung — Acetylcholin — Calcium — Kationen.

Die Wirkung des Acetylcholins auf das isolierte, atropinisierte Säugetierherz wurde 1945 von HOFFMANN, HOFFMANN, MIDDLETON u. TALESNIK beschrieben und als „adrenalinähnlich“ erkannt. RICHARDSON u. WOODS führten 1959 mit fluorimetrischen und biologischen Methoden den Nachweis, daß Acetylcholin aus dem isolierten Säugetierherzen Noradrenalin freisetzt.

In den letzten Jahren ist die Noradrenalin-Freisetzung durch Acetylcholin am perfundierten Nebennierenmark der Katze (DOUGLAS, 1966) und des Rindes (SCHÜMANN u. PHILIPP, 1963) genauer untersucht worden. Der Einfluß der Elektrolyte für diesen Prozeß wurde weitgehend geklärt, und es ergab sich, daß Acetylcholin eine Erhöhung der Membranpermeabilität für Ca^{++} an der chromaffinen Zelle bewirkt. Am perfundierten Nebennierenmark der Katze verursachte Acetylcholin (10^{-5} g/ml) eine achtfache Steigerung der Aufnahme von Ca^{45} in die chromaffine Zelle (DOUGLAS u. POISNER, 1962). Es ergab sich auch, daß

Acetylcholin (10^{-4} g/ml) die Membran der chromaffinen Zelle depolarisiert (DOUGLAS, KANNO u. SAMPSON, 1966).

Nach diesen Ergebnissen erschien es interessant, festzustellen, ob sich der Mechanismus der Noradrenalin-Freisetzung aus der chromaffinen Zelle von dem aus der sympathischen Nervenendigung unterscheidet. Das isolierte, perfundierte Kaninchenherz ist für eine solche Untersuchung geeignet, da das durch Acetylcholin freigesetzte Noradrenalin aus der sympathischen Nervenendigung stammt (CABRERA, COHEN, MIDDLETON u. VIVEROS, 1966). Chromaffines Gewebe ist im Kaninchenherzen nicht enthalten (MUSCHOLL, 1959). Auch ein ganglionärer Angriffspunkt des Acetylcholins innerhalb des Herzens ist unwahrscheinlich, da aufgrund von Denervationsversuchen das Herz praktisch frei von sympathischen Ganglien ist (COOPER, WILLMAN, JELLINEK u. HANLON, 1962).

In der vorliegenden Arbeit wurde am isolierten Kaninchenherzen der Einfluß der verschiedenen Elektrolyte auf die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin und auf die Spontanabgabe von Noradrenalin in das Perfusat untersucht.

Methodik

Verwendet wurden 42 Kaninchen mit einem durchschnittlichen Gewicht von 1700 g. Die Tiere wurden durch Nackenschlag betäubt und durch Aufschneiden einer Art. carotis entblutet. Die sofort herauspräparierten Herzen wurden nach LANGENDORFF mit Tyrodelösung bei 34°C und einem Druck von 60 cm H_2O perfundiert, wobei die Tyrodelösung mit einem Gemisch von 95% O_2 und 5% CO_2 durchperlt wurde. Die Herzaktion wurde mit einem Meßbrückendirektschreiber der Fa. Sanborn registriert. Zur Ausschaltung der muscarinartigen Wirkung des Acetylcholins wurde den Perfusionslösungen $3 \cdot 10^{-6}$ g Atropin/ml beigegeben. 1 Std nach Perfusionsbeginn wurden die Herzen der ersten Acetylcholin-Infusion ausgesetzt. Die Acetylcholin-Infusion wurde im Abstand von 15 min sechs- bis achtmal wiederholt. Bei Veränderung der Elektrolyt-Konzentrationen während des Versuchs wurde stets 15 min bis zur nächsten Infusion gewartet. Bei der Infusion wurde Acetylcholin in einer Konzentration von 10^{-3} g/ml in die Aortenkanüle 30 sec lang so infundiert, daß eine Endkonzentration im Perfusat von $3 \cdot 10^{-5}$ g/ml erreicht wurde. Dazu war es notwendig, den Coronardurchfluß unmittelbar vor jedem Effekt zu messen und die Acetylcholin-Menge darauf zu beziehen. Das Perfusat wurde 2 min lang gesammelt und durch Vorlegen einer 1 n H_2SO_4 auf pH 3 eingestellt.

Die Catecholamine in den Herzperfusaten wurden nach den von LINDMAR u. MUSCHOLL (1965) angegebenen Modifikationen der Trihydroxyindolmethode fluorimetrisch bestimmt (Anregung 395 und 436 nm; Fluorescenzmessung bei 520 nm mit dem Spektralfluorometer der Fa. Zeiss).

Zur Überprüfung der Methode wurden in regelmäßigen Abständen insgesamt 15 Ausbeuteversuche durchgeführt, die im Durchschnitt $81 \pm 2\%$ der eingesetzten Noradrenalin-Menge von $1 \mu\text{g}$ erbrachten.

Als Maß für die Noradrenalin-Freisetzung galt die von den Herzen in das Perfusat abgegebene Noradrenalin-Menge. Die Ergebnisse wurden nicht auf die Größe der Ausbeute korrigiert. Streuungsangaben in Verbindung mit Mittelwerten

stellen den mittleren Fehler des Mittelwerts dar ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$); n ist die Anzahl der Einzelwerte. Signifikanzberechnungen wurden mit dem Rangtest nach WILCOXON durchgeführt (PFANZAGL, 1966).

Als Substanzen¹ wurden verwendet: Atropin-sulfat (C. H. Boehringer Sohn), Acetylcholin-chlorid (Deutsche Hoffmann-La Roche AG.). Die Tyrodelösung hatte folgende Zusammensetzung: 8,0 g NaCl (137,3 mÄq Na⁺/l), 0,2 g KCl (2,7 mÄq K⁺/l), 0,2 g CaCl₂ (3,6 mÄq Ca⁺⁺/l), 0,1 g MgCl₂ (2,2 mÄq Mg⁺⁺/l), 1,0 g NaHCO₃ und 0,05 g NaH₂PO₄ (zusammen 12,8 mÄq Na⁺/l), 1,0 g Glucose, Aqua dest. ad 1000 ml, Zusatz von Ascorbinsäure 10⁻⁵ g/ml. Zur Veränderung der Elektrolyt-Konzentrationen wurde der Gehalt der in der Tyrodelösung vorhandenen Salze CaCl₂, MgCl₂, NaCl und KCl modifiziert. Bei Verminderung des NaCl-Gehalts wurde zur Aufrechterhaltung der Isotonie den Lösungen Saccharose bzw. LiCl zugesetzt; bei Erhöhung des KCl-Gehalts wurde die Isotonie durch Verminderung des NaCl-Gehalts gewahrt. Bei allen anderen Veränderungen waren die Abweichungen von der Isotonie so gering, daß sie vernachlässigt werden konnten.

V Versuchsergebnisse

1. Änderung der Elektrolyt-Konzentrationen

Bei unveränderter Tyrodelösung ging im Laufe der zweistündigen Versuchszeit die Frequenz von durchschnittlich 122 auf 104 Kontraktionen/min zurück, d. h. um $15 \pm 2,6\%$; die Kontraktionshöhe verringerte sich um $27 \pm 4,7\%$ und der Durchfluß sank von 33 auf 24 ml/min, d. h. um $27 \pm 2,9\%$ ($n = 17$). Die Spontanabgabe von Noradrenalin betrug bei unveränderter Tyrodelösung $2,2 \pm 0,4$ ng/min ($n = 21$).

In der Tabelle ist angegeben, wie sich Frequenz, Kontraktionshöhe, Durchfluß und Spontanabgabe von Noradrenalin verhalten, wenn die Elektrolyt-Konzentrationen der Tyrodelösung verändert werden. Trotz erheblicher Auswirkungen auf die Herzaktion und den Durchfluß wurde die Spontanabgabe von Noradrenalin nicht signifikant verändert.

Es war überraschend, daß auch eine Erhöhung der K⁺-Konzentration von 2,7 auf 54 mÄq/l die Noradrenalin-Abgabe nicht signifikant steigerte, denn am perfundierten Nebennierenmark der Katze war es bei einer Erhöhung der K⁺-Konzentration von 5,6 auf 55,6 mÄq/l zu einer Steigerung der Spontanabgabe von 0,05–0,1 µg auf 10 µg Noradrenalin und mehr gekommen (DOUGLAS u. RUBIN, 1961).

2. Wirkung von Acetylcholin unter Kontrollbedingungen

Die in den folgenden Versuchen angewandten kurzdauernden Acetylcholin-Infusionen hatten sich aus zwei Vorversuchen ergeben, die beide gezeigt hatten, daß Acetylcholin nur zu Beginn seiner Einwirkung Noradrenalin freisetzt. Dabei wurde Acetylcholin (10⁻⁴ g/ml) 10 min lang mit einer Infusionspumpe infundiert und das Perfusat jede Minute gesammelt. Wie Abb. 1 zeigt, wurde nur in der 1. und 2. min der Acetylcholin-Infusion vermehrt Noradrenalin vom Herzen abgegeben.

¹ Wir danken den Herstellerfirmen für Versuchsmengen.

Tabelle. Einfluß veränderter Elektrolyt-Konzentrationen auf die Herzfrequenz, die Kontraktionshöhe, den Coronardurchfluß und die Spontanabgabe von Noradrenalin. Angegeben sind die Änderungen gegenüber den Kontrollwerten in % bzw. die in 1 min abgegebene Noradrenalin-Menge in Nanogramm. Die Spontanabgabe von Noradrenalin bei unveränderter Tyrodelösung betrug $2,2 \pm 0,4$ ng/min ($n = 21$). $n =$ Anzahl der Einzelwerte

Art der Veränderung	Änderung der Konzentration von ...	Frequenz	Kontraktionshöhe	Coronardurchfluß	Spontanabgabe von Noradrenalin ng/min
Verminderung des Ca^{++} -Gehalts	$3,6 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$ auf $0,9 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$	$-21 \pm 7\%$ ($n = 4$)	$-68 \pm 5,1\%$ ($n = 4$)	$-1 \pm 7\%$ ($n = 4$)	$2,2 \pm 0,8$ ($n = 4$)
Erhöhung des Ca^{++} -Gehalts	$3,6 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$ auf $7,2 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$	$+3 \pm 4,1\%$ ($n = 3$)	$+23 \pm 5,7\%$ ($n = 3$)	$-9 \pm 1,4\%$ ($n = 3$)	$3,3 \pm 1,2$ ($n = 4$)
Erhöhung des Mg^{++} -Gehalts	$2,2 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$ auf $30 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$	$-15 \pm 40\%$ ($n = 2$)	$-46 \pm 17\%$ ($n = 2$)	$+62 \pm 13,6\%$ ($n = 2$)	$-0,6 \pm 1,8^1$ ($n = 3$)
Verminderung des Na^+ -Gehalts, Isotonie durch Saccharose	$150 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$ auf $52 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$	$+1 \pm 2,6\%$ ($n = 6$)	$+189 \pm 25,3\%$ ($n = 6$)	$+30 \pm 7,9\%$ ($n = 6$)	$3,3 \pm 1,1$ ($n = 4$)
Verminderung des Na^+ -Gehalts, Isotonie durch LiCl	$150 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$ auf $52 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$	$-20 \pm 4,5\%$ ($n = 6$)	$+62 \pm 9,4\%$ ($n = 6$)	$+9 \pm 2\%$ ($n = 6$)	$1,2 \pm 0,5$ ($n = 3$)
Verminderung des K^+ -Gehalts	$2,7 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$ auf $0,7 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$	$+18 \pm 15\%$ ($n = 4$)	$+160 \pm 43,2\%$ ($n = 4$)	$+1,5 \pm 19,7\%$ ($n = 4$)	$1,3 \pm 0,7$ ($n = 3$)
Erhöhung des K^+ -Gehalts	$2,7 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$ auf $54 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$	keine Kontraktion	keine Kontraktion	$-78 \pm 3,5\%$ ($n = 8$)	$3,4 \pm 1,8$ ($n = 7$)

¹ Bei der Berechnung der Amin-Konzentrationen nach der differentialfluorimetrischen Methode können bei sehr kleinen Konzentrationen eines Amins innerhalb der Streubreite der Methode negative Werte auftreten.

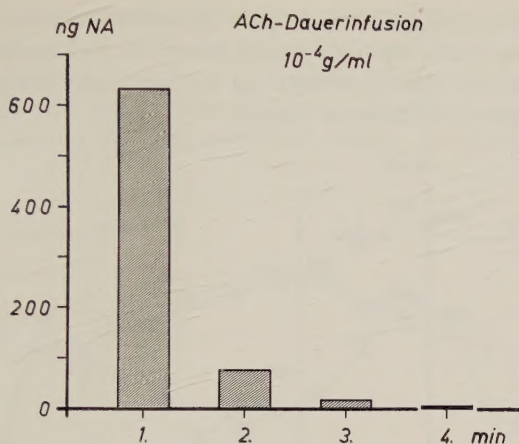


Abb. 1. Noradrenalin-Abgabe bei Dauereinwirkung von Acetylcholin (10^{-4} g/ml). Die Höhe der Säulen gibt die Menge des während der 1.—4. min in das Perfusat bei einem Einzelversuch abgegebenen Noradrenalins (NA) in Nanogramm an. Die Perfusionslösung enthielt 10^{-5} g Atropin/ml

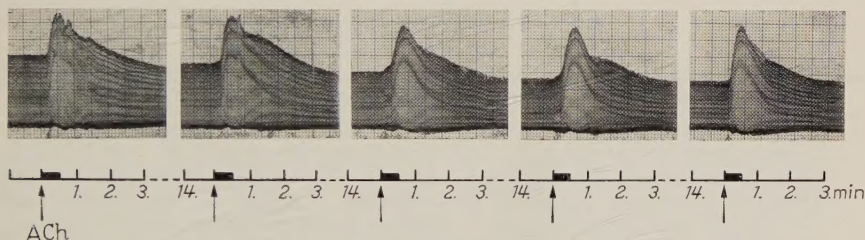


Abb. 2. Wirkung von Acetylcholin (ACh) auf die Kontraktionsamplitude des perfundierten Kaninchenherzens unter Ausschaltung des muscarinartigen Effekts durch Atropin ($3 \cdot 10^{-6}$ g/ml). ■ Acetylcholin-Infusion (Dauer 30 sec, Endkonzentration $3 \cdot 10^{-5}$ g/ml). Dargestellt sind fünf Effekte in je 15 min Abstand; die Registrierung wurde von der Mitte der 4. min nach Infusionsbeginn bis zum Beginn der 14. min unterbrochen

Wenn Acetylcholin ($3 \cdot 10^{-5}$ g/ml) in ein isoliertes Kaninchenherz 30 sec lang infundiert wurde, und die Perfusionslösung Atropin ($3 \cdot 10^{-6}$ g/ml) enthielt, kam es zu einer Frequenzsteigerung von $22 \pm 3,6\%$ und einer Erhöhung der Kontraktionsamplitude von $39 \pm 2,7\%$ ($n = 17$), wobei beide Effekte maximal in der zweiten Hälfte der 1. min ausgeprägt waren und in der 3. min bereits abklangen (Abb. 2).

Die Acetylcholin-Infusion wurde achtmal im Abstand von 15 min wiederholt. Bei der ersten Infusion verringerte sich der Durchfluß um $27 \pm 3\%$ ($n = 17$); mit jeder weiteren Infusion ging der Durchfluß weniger stark zurück und fiel bei der sechsten Infusion nur noch um $15 \pm 2\%$ ab.

Bei der ersten Infusion wurde über $1\text{ }\mu\text{g}$ Noradrenalin vom Herzen abgegeben, dann sank die abgegebene Menge in Abhängigkeit von der Zahl der Infusionen ab; der Abfall war im halblogarithmischen System annähernd linear (Abb.3, obere Kurve).

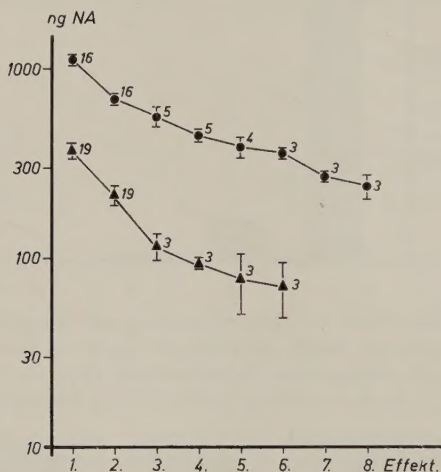


Abb.3. Noradrenalin-Abgabe durch Infusion von Acetylcholin. Ordinate: Menge des abgegebenen Noradrenalins (NA) in Nanogramm. Abszisse: Anzahl der Acetylcholin-Effekte. Die acht bzw. sechs Effekte wurden im Abstand von je 15 min gesetzt. Infusionsdauer und Acetylcholin-Endkonzentration siehe Abb.2. ●—● Kontrollwerte (unveränderte Tyrodelösung). ▲—▲ Ca^{++} -Konzentration von 3,6 auf 0,9 mÄq/l vermindert. Zahlen in der Abbildung = Anzahl der Einzelwerte. Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ mittlerem Fehler des Mittelwerts ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

3. Wirkung von Acetylcholin bei verändertem Ca^{++} -Gehalt der Tyrodelösung

Wie in der Einleitung schon erwähnt wurde, hat Ca^{++} bei der Noradrenalin-Freisetzung durch Acetylcholin aus chromaffinen Zellen eine besondere Bedeutung. Bei Verminderung des Ca^{++} -Gehalts von 3,6 auf 0,9 mÄq/l, also auf ein Viertel, ging die Noradrenalin-Abgabe bei sechs Acetylcholin-Infusionen gleichmäßig um durchschnittlich 75% zurück, so daß die Kontrollkurve (3,6 mÄq Ca^{++} /l) annähernd parallel nach unten verschoben wurde (Abb.3). Der Durchfluß verringerte sich bei der ersten Infusion um $16 \pm 2,5\%$ ($n = 13$); wie bei den Infusionen unter Kontrollbedingungen fiel der Durchfluß mit jeder weiteren Infusion weniger ab.

In einer anderen Versuchsanordnung wurde der Ca^{++} -Gehalt erst nach der zweiten Infusion auf 0,9 mÄq/l vermindert. Wie Abb.4 zeigt, ging darauf die Noradrenalin-Abgabe bei der dritten und vierten Infusion signifikant zurück ($p < 0,01$). Nach der vierten Infusion wurde der Ca^{++} -

Gehalt wieder normalisiert; die hierbei gemessene Spontanabgabe von Noradrenalin ($-1,2 \pm 1,3$ ng; $n = 4$) war gegenüber dem Kontrollwert nicht erhöht. Dagegen war die Noradrenalin-Abgabe im 5. Acetylcholin-Effekt, der 15 min nach Normalisierung des Ca^{++} -Gehalts erfolgte, auffallend gegenüber dem Kontrollwert erhöht ($p < 0,05$).

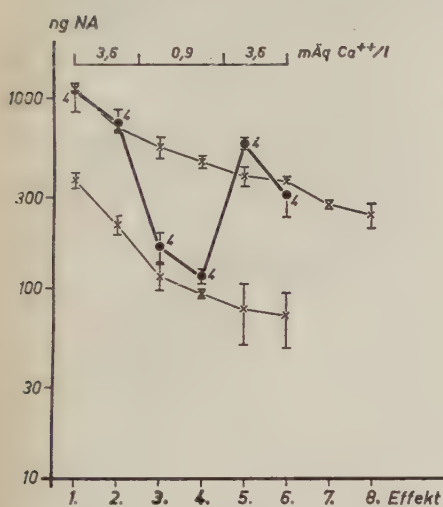


Abb. 4

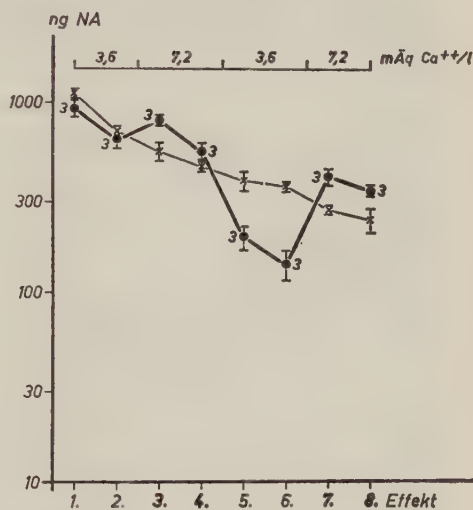


Abb. 5

Abb. 4. Noradrenalin-Abgabe durch Infusion von Acetylcholin bei vorübergehend verminderter Ca^{++} -Konzentration. ●—● Ca^{++} -Konzentration von 3,6 auf 0,9 mÄq/l während einer Periode vermindert, die den 3. und 4. Effekt (fette Zahlen) umfaßt. Bei Veränderung der Elektrolyt-Konzentration (Herabsetzung oder Steigerung) wurde stets 15 min bis zum nächsten Effekt gewartet. ×—× Zum Vergleich sind die beiden Kurven aus Abb. 3 übernommen: oben 3,6 mÄq Ca^{++} /l, unten 0,9 mÄq Ca^{++} /l. Dosen von Acetylcholin, Zahlen in der Abbildung und Streuungen siehe Legende zu Abb. 3

Abb. 5. Noradrenalin-Abgabe durch Infusion von Acetylcholin bei erhöhter Ca^{++} -Konzentration. ●—● Ca^{++} -Konzentration von 3,6 auf 7,2 mÄq/l während zweier Perioden erhöht, die den 3. und 4. sowie 7. und 8. Effekt (fette Zahlen) umfassen. Zum Vergleich ist die Kontrollkurve (3,6 mÄq Ca^{++} /l) aus Abb. 3 übernommen (×—×). Weitere Einzelheiten siehe Abb. 4

Bei der Erhöhung der Ca^{++} -Konzentration von 3,6 auf 7,2 mÄq/l wurde die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin signifikant gesteigert ($p < 0,01$). Wie die Abb. 5 zeigt, erfolgte die Erhöhung der Ca^{++} -Konzentration während zweier Perioden, die den 3. und 4. bzw. den 7. und 8. Acetylcholin-Effekt umfaßten. Es ist bemerkenswert, daß nach Normalisierung des Ca^{++} -Gehalts im 5. und 6. Effekt die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin signifikant auf ca. 50% unter die Kontrollwerte sank

($p < 0,01$) (Abb. 5). Der Durchfluß ging bei erhöhter Ca^{++} -Konzentration im Acetylcholin-Effekt um $2 \pm 1,9\%$ ($n = 3$) zurück.

4. Wirkung von Acetylcholin bei verändertem Mg^{++} -Gehalt der Tyrodelösung

Die Erhöhung der Mg^{++} -Konzentration von 2,2 auf 9,6 mÄq/l und auf 30 mÄq/l beeinflusste die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin nicht.

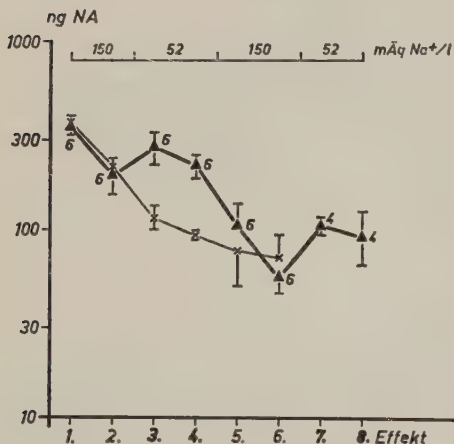


Abb. 6

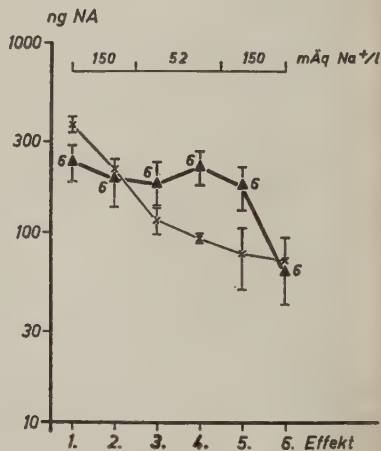


Abb. 7

Abb. 6. Noradrenalin-Abgabe durch Infusion von Acetylcholin bei verminderter Na^{+} -Konzentration; Isotonie mit Saccharose eingestellt. Während der ganzen Versuchsdauer war die Ca^{++} -Konzentration auf 0,9 mÄq/l herabgesetzt. $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$ Na^{+} -Konzentration von 150 auf 52 mÄq/l während zweier Perioden vermindert, die den 3. und 4. sowie 7. und 8. Effekt (fette Zahlen) umfassen. Zum Vergleich ist die Kontrollkurve (0,9 $\text{mÄq Ca}^{++}/\text{l}$) aus Abb. 3 übernommen ($\times$ — $\times$). Weitere Einzelheiten siehe Abb. 4

Abb. 7. Noradrenalin-Abgabe durch Infusion von Acetylcholin bei verminderter Na^{+} -Konzentration; Isotonie mit LiCl eingestellt. Während der ganzen Versuchsdauer war die Ca^{++} -Konzentration auf 0,9 mÄq/l herabgesetzt. $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$ Na^{+} -Konzentration von 150 auf 52 mÄq/l während einer Periode vermindert, die den 3. und 4. Effekt (fette Zahlen) umfaßt. Zum Vergleich ist die Kontrollkurve (0,9 $\text{mÄq Ca}^{++}/\text{l}$) aus Abb. 3 übernommen ($\times$ — $\times$). Weitere Einzelheiten siehe Abb. 4

Zur Klärung der Frage, ob ein Synergismus zwischen Mg^{++} und Ca^{++} besteht, wurde in einem Versuch der Ca^{++} -Gehalt von 3,6 auf 0,9 mÄq/l gesenkt und die fehlenden 2,7 mÄq/l durch eine äquivalente Menge Mg^{++} ersetzt; in einem weiteren Versuch wurde der Mg^{++} -Gehalt auf 9,6 mÄq/l bei 0,9 $\text{mÄq Ca}^{++}/\text{l}$ erhöht. Bei beiden Versuchen konnte die Substitution von Ca^{++} durch Mg^{++} die Verminderung der durch Acetylcholin bedingten Noradrenalin-Abgabe nicht verhindern.

5. Wirkung von Acetylcholin bei vermindertem Na^+ -Gehalt der Tyrodelösung

Bei Verminderung des Na^+ -Gehalts von 150 auf 52 mÄq/l, also auf 35%, kam es zu einer Steigerung der Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin; allerdings nur dann, wenn die Noradrenalin-Abgabe während des ganzen Versuchs gesenkt wurde, was durch Verminderung des Ca^{++} -Gehalts von 3,6 auf 0,9 mÄq/l zu erreichen war. Bei 3,6 mÄq Ca^{++} /l bewirkte die Verminderung der Na^+ -Konzentration keine gesteigerte Noradrenalin-Abgabe. Die Isotonie wurde in einer Versuchsreihe durch Saccharose und in einer anderen durch LiCl aufrechterhalten. Dabei ergaben sich Unterschiede in der Art der vermehrten Noradrenalin-Abgabe: Beim NaCl-Ersatz durch Saccharose (Abb. 6) war das Maximum der signifikant gesteigerten Noradrenalin-Abgabe ($p < 0,01$) schon nach 15 min erreicht, und nach dem Zurückschalten auf 150 mÄq Na^+ /l ging die gesteigerte Noradrenalin-Abgabe schneller auf den Kontrollwert zurück als beim Ersatz von NaCl durch LiCl (Abb. 7); hier war sowohl das Maximum der gesteigerten Noradrenalin-Abgabe als auch das Abklingen des Effekts um mehr als 15 min verzögert.

Es muß hervorgehoben werden, daß beim Ersatz von NaCl durch LiCl der Durchfluß während der Acetylcholin-Infusion um $30 \pm 16,5\%$ ($n = 4$) anstieg; das bewirkte eine Verminderung der Acetylcholin-Endkonzentration von $3 \cdot 10^{-5}$ auf $2,3 \cdot 10^{-5}$ g/ml; dennoch war die Noradrenalin-Abgabe statistisch auffällig ($p < 0,05$) gesteigert.

6. Wirkung von Acetylcholin bei verändertem K^+ -Gehalt der Tyrodelösung

Bei Verminderung des K^+ -Gehalts wurde die gleiche Versuchsanordnung wie bei vermindertem Na^+ -Gehalt gewählt, d. h., während des ganzen Versuchs war der Ca^{++} -Gehalt auf ein Viertel vermindert, und der K^+ -Gehalt wurde während zweier Perioden gesenkt. Zunächst wurde er von 2,7 auf 0,7 mÄq/l vermindert, und während der 7. und 8. Infusion war die Tyrodelösung K^+ -frei; unter dieser Bedingung kontrahierte sich das Herz nach ca. 20 min nicht mehr.

Bei Verminderung des K^+ -Gehalts kam es zu einer eindrucksvollen Steigerung der Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin; dabei ist bemerkenswert, daß die Noradrenalin-Abgabe noch eine $\frac{1}{2}$ Std nach Zurückschalten auf 2,7 mÄq K^+ /l signifikant ($p < 0,01$) erhöht war (5. und 6. Effekt; siehe Abb. 8). Der Durchfluß stieg bei vermindertem K^+ -Gehalt im Acetylcholin-Effekt um $10 \pm 10,4\%$ ($n = 4$).

Bei Erhöhung des K^+ -Gehalts von 2,7 auf 54 mÄq/l, also um das 20fache, ging die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin von 422 ± 138 ng auf 20 ± 6 ng Noradrenalin zurück (Abb. 9). Die Isotonie wurde

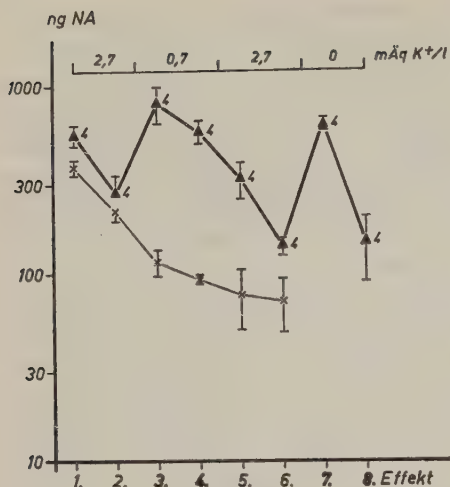


Abb. 8

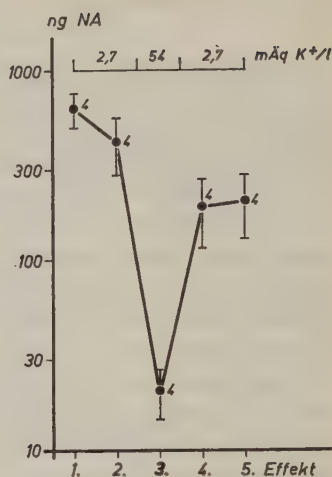


Abb. 9

Abb. 8. Noradrenalin-Abgabe durch Infusion von Acetylcholin bei verminderter K^+ -Konzentration. Während der ganzen Versuchsdauer war die Ca^{++} -Konzentration auf 0,9 mÄq/l herabgesetzt. ▲—▲ K^+ -Konzentration während zweier Perioden vermindert, bei der ersten (3. und 4. Effekt) von 2,7 auf 0,7 mÄq/l, bei der zweiten (7. und 8. Effekt) von 2,7 auf 0 mÄq/l. Zum Vergleich ist die Kontrollkurve (0,9 mÄq Ca^{++} /l) aus Abb. 3 übernommen (×—×). Weitere Einzelheiten siehe Abb. 4

Abb. 9. Noradrenalin-Abgabe durch Infusion von Acetylcholin bei erhöhter K^+ -Konzentration; Isotonie durch Verminderung des NaCl-Gehalts eingestellt. ●—● K^+ -Konzentration von 2,7 auf 54 mÄq/l während einer Periode erhöht, die den 3. Effekt (fette Zahl) umfaßt. Weitere Einzelheiten siehe Abb. 4

durch Verminderung des Na^+ -Gehalts von 150 auf 99 mÄq/l aufrecht-erhalten; der Ca^{++} -Gehalt war unverändert (3,6 mÄq/l). Der Durchfluß sank bei erhöhter K^+ -Konzentration im Acetylcholin-Effekt um $36 \pm 17,7\%$ ($n = 4$).

Diskussion

Wie in der Einleitung schon ausgeführt wurde, stammt das freigesetzte Noradrenalin aus den sympathischen Nervenendigungen. Es wurde weiterhin dargelegt, daß das Acetylcholin in bezug auf die Noradrenalin-Freisetzung nicht über einen ganglionären Angriffspunkt wirken kann; Acetylcholin greift wahrscheinlich an der Membran der postganglionären, sympathischen Nervenfasern im Sinne der „nicotinartigen Wirkung“ an. Andere nicotinartig wirkende Substanzen, wie Nicotin und DMPP (1,1-Dimethyl-4-phenyl-piperaziniumjodid), setzen ebenfalls Noradrenalin aus dem isolierten Herzen frei (LINDMAR, 1961; LINDMAR u. MUSCHOLL, 1961). Es ist weiterhin bekannt, daß Acetylcholin aus chromaffinen Granulasuspensionen Brenzcatechinamine nicht

freisetzt (PHILIPPU u. SCHÜMANN, 1962 a, b), wodurch die Annahme bestätigt wird, daß das Acetylcholin an der Zellmembran angreift. Tatsächlich depolarisiert Acetylcholin (10^{-4} g/ml) die Membran der chromaffinen Zelle (DOUGLAS, KANNO u. SAMPSON, 1966) und steigert den Ca^{45} -Influx (DOUGLAS u. POISNER, 1962).

Daß die Beobachtungen an der chromaffinen Zelle nicht auch für die periphere, sympathische Nervenfasern gelten müssen, bestätigen die Befunde der vorliegenden Arbeit, die teilweise von den Ergebnissen am perfundierten Nebennierenmark abweichen.

Übereinstimmung ergab sich darin, daß die Noradrenalin-Freisetzung durch Acetylcholin Ca^{++} -abhängig ist, was sich sowohl bei Verminderung als auch bei Erhöhung der Ca^{++} -Konzentration zeigte. Damit wird die Vorstellung von den Ca-Ionen als Vermittler zwischen der Acetylcholin-Wirkung an der Zellmembran und der Noradrenalin-Freisetzung aus den spezifischen Granula auch für die sympathische Nervenendigung bestätigt.

Nach einer Periode mit vermindertem Ca^{++} -Gehalt war die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin vorübergehend überschießend gesteigert (Abb. 4); dagegen war sie nach einer Periode mit erhöhtem Ca^{++} -Gehalt unter die Kontrollwerte vermindert (Abb. 5). Möglicherweise lassen sich beide Befunde durch einen erhöhten bzw. erniedrigten elektro-chemischen Gradienten zwischen extra- und intracellulärem Ca^{++} erklären, der noch 15 min nach Zurückschalten auf $3,6 \text{ mÄq } \text{Ca}^{++}/\text{l}$ verändert ist; das würde bedeuten, daß am peripheren, sympathischen Nerv der Ca^{++} -Einstrom vom Ca^{++} -Gradienten abhängt, was HODGKIN u. KEYNES (1957) für das Riesenaxon des Tintenfisches nachgewiesen haben.

Bei Substitution der Ca-Ionen durch Mg-Ionen blieb die Verminderung der Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin bestehen, auch dann, wenn die Mg^{++} -Konzentration weiter gesteigert wurde. Hohe Mg^{++} -Konzentrationen bei unverändertem Ca^{++} -Gehalt hatten keinen Einfluß auf die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin; auch eine erhöhte Spontanabgabe von Noradrenalin konnte dabei nicht gefunden werden. Dies sind wesentliche Unterschiede zum Nebennierenmark. Am perfundierten Nebennierenmark des Rindes und an chromaffinen Granulasuspensionen konnte die Spontanabgabe von Noradrenalin durch Steigerung sowohl der Ca^{++} -Konzentration als auch der Mg^{++} -Konzentration erhöht werden (SCHÜMANN u. PHILIPPU, 1963); andererseits trat am perfundierten Nebennierenmark der Katze bei erhöhten Mg^{++} -Konzentrationen eine Hemmung der durch Acetylcholin hervorgerufenen Noradrenalin-Abgabe ein; auch die erhöhte Spontanabgabe von Noradrenalin durch Ca-Ionen wurde durch Mg-Ionen gehemmt (DOUGLAS u. RUBIN, 1963).

Bei Verminderung der Na^+ -Konzentration wurde die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin gesteigert, sowohl bei Substitution des NaCl durch Saccharose als auch durch LiCl ; allerdings kam es zu einer Steigerung nur dann, wenn auch die Ca^{++} -Konzentration gesenkt wurde. Die gleiche Beobachtung hatte KELLY (1965) bei der Acetylcholin-Freisetzung aus der motorischen Nervenendigung gemacht, als er NaCl durch Saccharose ersetzte. Die Noradrenalin-Freisetzung durch Acetylcholin aus der sympathischen Nervenendigung unterliegt also auch einem Ca^{++} - Na^+ -Antagonismus, wie er schon für verschiedene biologische Vorgänge bekannt ist, z. B. für die Noradrenalin-Freisetzung aus der chromaffinen Zelle (DOUGLAS u. RUBIN, 1963), die Vasopressin-Freisetzung aus der Hypophyse (DOUGLAS u. POISNER, 1964), die Acetylcholin-Freisetzung aus der motorischen Nervenendigung (KELLY, 1965) und auch für den Mechanismus der Muskelkontraktion (WILBRANDT u. KOLLER, 1948; LÜTTGAU u. NIEDERGERKE, 1958). Die Substitution von NaCl sowohl durch Saccharose als auch durch LiCl bewirkte eine Steigerung der Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin; das weist auf eine spezifische inaktivierende Wirkung der Na -Ionen hin, was auch für die Kontraktion des Froschherzens nachgewiesen worden war (LÜTTGAU u. NIEDERGERKE, 1958). Der Befund, daß bei der NaCl -Substitution durch LiCl das Abklingen der gesteigerten Noradrenalin-Abgabe verzögert war, könnte durch die leichte Ruhepermeabilität der Li -Ionen durch die Zellmembran und die anschließende hohe Anreicherung der Li -Ionen in der Zelle erklärt werden (CARMELIET, 1964).

Bei Verminderung der K^+ -Konzentration kam es zu einer erheblichen Steigerung der Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin, die andererseits durch eine erhöhte K^+ -Konzentration stark vermindert wurde. Eine erhöhte Spontanabgabe von Noradrenalin war bei hohen K^+ -Konzentrationen nicht vorhanden, wie sie beim perfundierten Nebennierenmark der Katze beobachtet worden war (DOUGLAS u. RUBIN, 1961). Bei Messungen des Membranpotentials an chromaffinen Zellen von *Meriones unguiculatus* (Wüstenmaus) haben DOUGLAS, KANNO u. SAMPSON (1966) gezeigt, daß erhöhte K^+ -Konzentrationen, die an der chromaffinen Zelle zu einer gesteigerten Spontanabgabe von Noradrenalin führen, die Zellmembran depolarisierten. In der gleichen Arbeit konnte die Hypothese widerlegt werden, daß die Noradrenalin-Freisetzung allein durch die Depolarisation bestimmt wird, denn eine Verminderung der Na^+ -Konzentration hemmte den depolarisierenden Effekt von Acetylcholin, führte aber zu einer gesteigerten Noradrenalin-Freisetzung durch Acetylcholin. Auch für die sympathische Nervenendigung erscheint es nach den Befunden der vorliegenden Arbeit unwahrscheinlich, daß eine Depolarisation die Noradrenalin-Freisetzung direkt beeinflusst, da sich durch hohe K^+ -Konzentrationen die Spontan-Abgabe von

Noradrenalin nicht steigern ließ und während einer Periode mit erhöhter K^+ -Konzentration die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin sogar gesenkt wurde.

Der Einfluß der verschiedenen Elektrolyt-Konzentrationen auf die Herzaktion (siehe Tabelle) entsprach früheren Untersuchungen (Übersicht von REITER, 1964). Der positiv chronotrope und inotrope Effekt des Acetylcholins ist auf das freigesetzte Noradrenalin zurückzuführen (RICHARDSON u. WOODS, 1959).

Die Versuchsergebnisse lassen sich nicht durch Veränderungen des Coronardurchflusses erklären, die sich als Folge veränderter Elektrolyt-Konzentrationen bzw. der Gefäßwirkung von Acetylcholin ergaben; der Durchfluß wurde durch Erhöhung des Mg^{++} -Gehalts und durch Verminderung des Na^+ -Gehalts gesteigert (siehe Tabelle); im ersten Fall entsprach die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin dem Erwartungswert unter Kontrollbedingungen, im zweiten Fall wurde die Noradrenalin-Abgabe durch Acetylcholin gesteigert. Während der Acetylcholin-Infusion verringerte sich der Durchfluß bei Verminderung und bei Erhöhung der Ca^{++} -Konzentration, im ersten Fall ging die Noradrenalin-Abgabe zurück, im zweiten Fall wurde sie gesteigert.

Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft. Herrn Dr. H. FASSL vom Institut für Medizinische Statistik der Universität Mainz danke ich für kritische Beratung bei der statistischen Auswertung und für sorgfältige technische Mitarbeit bei den Versuchen Frau G. KUHN und Fräulein B. HERING.

Literatur

- CABRERA, R., A. COHEN, S. MIDDLETON, L. UTANO, and H. VIVEROS: The immediate source of noradrenaline released in the heart by acetylcholine. *Brit. J. Pharmacol.* **27**, 46 (1966).
- CARMELIET, E. E.: Influence of lithium ions on the transmembrane potential and cation content of cardiac cells. *J. gen. Physiol.* **47**, 501 (1964).
- COOPER, T., V. L. WILLMAN, M. JELLINEK, and C. R. HANLON: Heart autotransplantation: Effects on myocardial catecholamines and histamine. *Science* **138**, 40 (1962).
- DOUGLAS, W. W.: The mechanism of release of catecholamines from the adrenal medulla. *Pharmacol. Rev.* **18**, 471 (1966).
- T. KANNO, and S. R. SAMPSON: Intracellular recording from adrenal chromaffin cells: Effects of acetylcholine, hexamethonium and potassium on membrane potentials. *J. Physiol. (Lond.)* **186**, 125 P (1966).
- , and A. M. POISNER: On the mode of action of acetylcholine in evoking adrenal medullary secretion: Increased uptake of Ca during the secretory response. *J. Physiol. (Lond.)* **162**, 385 (1962).
- Stimulus-secretion coupling in a neurosecretory organ: The role of calcium in the release of vasopressin from the neurohypophysis. *J. Physiol. (Lond.)* **172**, 1 (1964).
- , and R. P. RUBIN: The role of calcium in the secretory response of the adrenal medulla to acetylcholine. *J. Physiol. (Lond.)* **159**, 40 (1961).

- DOUGLAS, W. W., and R. P. RUBIN: The mechanism of catecholamine release from the adrenal medulla and the role of calcium in stimulus-secretion coupling. *J. Physiol. (Lond.)* **167**, 288 (1963).
- HODGKIN, A. L., and R. D. KEYNES: Movements of labelled calcium in squid giant axons. *J. Physiol. (Lond.)* **138**, 253 (1957).
- HOFFMANN, F., E. F. HOFFMANN, S. MIDDLETON, and J. TALESNIK: The stimulating effect of acetylcholine on the mammalian heart and the liberation of an epinephrine-like substance by the isolated heart. *Amer. J. Physiol.* **144**, 189 (1945).
- KELLY, J. S.: Antagonism between Na^+ and Ca^{++} at the neuromuscular junction. *Nature (Lond.)* **205**, 296 (1965).
- LINDMAR, R.: Die Wirkung von 1,1-Dimethyl-4-Phenyl-Piperazinium-Jodid am isolierten Vorhof im Vergleich zur Tyramin- und Nicotinwirkung. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **242**, 458 (1961).
- , u. E. MUSCHOLL: Die Wirkung von Cocain, Guanethidin, Reserpin, Hexamethonium, Tetracain und Psicain auf die Noradrenalin-Freisetzung aus dem Herzen. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **242**, 214 (1961).
- — Die Aufnahme von α -Methylnoradrenalin in das isolierte Kaninchenherz und seine Freisetzung durch Reserpin und Guanethidin in vivo. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **249**, 529 (1965).
- LÖFFELHOLZ, K., u. E. MUSCHOLL: Untersuchungen über die Noradrenalin-Freisetzung durch Acetylcholin am perfundierten Kaninchenherzen. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. exp. Path.* **257**, 38 (1967).
- LÜTTGAU, H. C., and R. NIEDERGERKE: The antagonism between Ca and Na ions on the frog's heart. *J. Physiol. (Lond.)* **143**, 486 (1958).
- MUSCHOLL, E.: Die Konzentration von Noradrenalin und Adrenalin in den einzelnen Abschnitten des Herzens. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **237**, 350 (1959).
- PFANZAGL, J.: Allgemeine Methodenlehre der Statistik. **Bd. 2**; Sammlung Götschen, Berlin: W. de Gruyter u. Co. 1966.
- PHILIPP, A., u. H. J. SCHÜMANN: Der Einfluß von Calcium auf die Brenzkatechinaminfreisetzung. *Experientia (Basel)* **18**, 138 (1962a).
- — Brenzkatechinaminfreisetzung durch Calcium. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **243**, 348 (1962b).
- REITER, M.: Electrolytes and myocardial contractility. In: *Pharmacology of cardiac function*, p. 25 (Ed. O. KRAYER), Proc. II. Internat. Pharmacol. Meeting, Oxford: Pergamon Press 1964.
- RICHARDSON, J. A., and E. F. WOODS: Release of norepinephrine from the isolated heart. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **100**, 149 (1959).
- SCHÜMANN, H. J., u. A. PHILIPP: Zum Mechanismus der durch Calcium und Magnesium verursachten Freisetzung der Nebennierenmarkhormone. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **244**, 466 (1963).
- WILBRANDT, W., u. H. KOLLER: Die Calcium-Wirkung am Froschherzen als Funktion des Ionengleichgewichts zwischen Zellmembran und Umgebung. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **6**, 208 (1948).

K. LÖFFELHOLZ

Pharmakologisches Institut der Universität
6500 Mainz, Langenbeckstraße 1

Lebenslauf

Ich wurde am 6. September 1937 als dritter Sohn des Dr. rer. pol. Josef Löffelholz und seiner Ehefrau Irmgard geb. Roloff in Berlin geboren. Eingeschult wurde ich im Jahre 1944 in Lindenau im Sudetenland. Die Nachkriegsjahre brachten einen häufigen Wohnort- und Schulwechsel mit sich: Vorübergehend hielt ich mich in Dresden, in Weimar und in Bad Homburg auf.

Im Jahre 1949 besuchte ich das Realgymnasium in Aschaffenburg und ab 1951 das Städtische Realgymnasium in Wiesbaden. Ich legte die Reifeprüfung im Rheingau-Gymnasium Geisenheim im Februar 1959 ab und immatrikulierte mich danach an der Philipps-Universität Marburg im Fach „Kunstgeschichte“, wechselte aber schon bald zur „Medizin“ über. Seit 1960 studierte ich an der Johannes Gutenberg - Universität Mainz, wo ich Vorphysikum, Physikum und im Jahre 1965 das medizinische Staatsexamen bestand. Danach arbeitete ich als Medizinalassistent in der chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Bassum, im Pharmakologischen Institut der Universität Mainz und in der inneren Abteilung des Bethesda-Krankenhauses Duisburg.

